اصلاح زیستی خاک آلوده به گازوئیل با استفاده از کود گاوی*

محمد شکوهیان(۱) محمد جواد مرادی(۲)

چکیده تاکنون روش‌های زیادی برای رفع آلودگی ترکیبات نفتی از خاک ارائه شده است که یکی از مهم‌ترین آن‌ها، اصلاح زیستی به‌کمک میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. روشی که در این مطالعه برای پاک‌سازی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی (TPH) استفاده شد، بهره‌گیری از کود گاوی به‌عنوان ماده‌ی اصلاح‌کننده و تأمین‌کننده‌ی مواد مغذی مورد نیاز میکروارگانیسم‌ها بود. در این راستا، خاک به‌صورت مصنوعی با غلظت ٦٠٠٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم به گازوییل آلوده شد و تیمارهای آزمایش با نسبت‌های اختلاط خاک آلوده به کود گاوی، ۱ به ۰/۱۵، ۱ به ۰/۳، ۱ به ۰/۵ و ۱ به ۱ وزن مرطوب مواد در ۳ تکرار تهیه شدند. برای بررسی و شناخت شرایط محیطی حاکم بر فرآیند اصلاح، نسبت‌های C/N، C/P و هم‌چنین تعداد کل میکروارگانیسم‌ها در ابتدا، هفته‌ی پنجم و انتهای آزمایش (هفته‌ی ۱۱) اندازه‌گیری گردید. برای تعیین TPH باقی‌مانده‌ی تیمارها از دستگاه گاز کروماتوگراف به‌روش استاندارد EPA 8015B استفاده شد. نتایج نشان داد که تجزیه‌ی گازوئیل به‌طور معنی‌داری با اضافه کردن کود گاوی به خاک آلوده نسبت به تیمار کنترل افزایش یافت و مدل سینتیکی درجه دوم، واکنش تجزیه TPH را بهتر توصیف کرد. نتایج حاکی از آن است که بیش‌ترین میزان تجزیه در ۵ هفته ابتدایی رخ داده است به‌طوری‌که تیمار ۱:۰/۵، ۵۰ درصد حذف TPH را نشان داد. پس از این زمان، روند حذف گازوئیل سرعت کم‌تری را تجربه کرد. در پایان آزمایش، تیمار ۱:۱ با ٦٢ درصد حذف TPH ، به‌ترین تیمار مورد مطالعه بود. البته تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد در مقایسه با تیمار ۱:۰/۵ با ۵۸ درصد حذف به‌دست نیامد. آنالیز آماری نشان داد که همبستگی مناسبی بین درصد حذف TPH و تعداد کل میکروارگانیسم‌ها وجود دارد (r= ۰/۷۳۳).

واژه‌های کلیدی اصلاح زیستی، خاک آلوده، هیدروکربن نفتی، کود گاوی.

Bioremediation of Diesel Fuel Contaminated Soil Using Cow Manure

M. Shokouhian M.J. Moradi

Abstract *So far, different methods have been applied to clean up soils contaminated with oil. Bioremediation is one of the clean up technologies which uses microorganisms or microbial processes to degrade oil contaminations **in** soils. This study evaluate**s** the applicability of cow manure as bioremediation alternative for soils spiked with petroleum hydrocarbons. Target contaminant of this research was diesel fuel which was spiked at 60000 mg/kg sample on a dry weight basis. The major goal of this research was to find the appropriate mix ratio of cow manure for enhancing diesel fuel degradation during contaminated soil composting. The ratios of contaminated soil to cow manure were 1:0.15, 1:0.3, 1:0.5 and 1:1 as wet weight basis in 3 replicates. To examine the circumstances conditions on degradation process, we determined the C/N, C/P and total bacterial count (TBC) of treatments at start, week 5 and week 11(end of study). Total petroleum hydrocarbons (TPH) were measured by USEPA standard method 8015B using GC-FID. The degradation of diesel fuel was significantly enhanced by the addition of cow manure as compared to the control treatment and TPH degradation results were better described using a second- order kinetic model. The experimental data indicated that the most degradation rates occurred in the first 5 weeks. By week 5, 50% of the original TPH was removed in the 1:1 treatment. After this period, degradation trend of diesel fuel showed a lower removal rate. At the end of study, the most active degradation of TPH was observed at the soil to cow manure mix ratio of 1:1 with 62% removal whereas the 1:0.5 treatment degraded 58% of TPH contamination. No statistically significant difference was observed between 1:1 and 1:0.5 treatments (p<0.05). Statistical analysis showed high correlations among the amount of TPH degraded and TBC**s**(r = 0.733).*

Key Words Bioremediation, Contaminated Soil, Petroleum Hydrocarbons, Cow Manure

★ تاریخ دریافت مقاله ۹۰/۱۰/۱۸ و تاریخ پذیرش آن ۹۱/۹/۲۷ می باشد.

(۱) نویسنده مسؤول: عضو هیات علمی مهندسی عمران محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد.

(۲) دانشجوی کارشناسی ارشد عمران محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد.

مقدمه

افزایش سریع جمعیت جهان منجر به نیاز شدید به مقادیر زیادی سوخت، مواد شیمیایی صنعتی، کودهای شیمیایی، سموم دفع آفات نباتی و داروها شده است تا موجب بقا و بهبود کیفیت زندگی گردد. با وجود مصرف زیاد این مواد، مقداری از آن‌ها از بین رفته اما بخشی دیگر در هوا، آب و خاک رها شده و باعث خطرات بالقوه‌ی زیست‌محیطی گردیده است [۱]. آلاینده‌های هیدروکربنی از طریق عوامل متعددی هم‌چون دفع غیر اصولی فاضلاب و ضایعات صنایع، شکستن خطوط انتقال، نشت از مخازن ذخیره و تصادفات تانکرها و نفت‌کش‌ها وارد محیط زیست می‌گردد. امروزه خاک‌های آلوده تهدید مهمی برای سلامتی انسان به‌شمار می‌روند [۱]. با توجه به محدودیت منابع و لزوم پاک نگه داشتن محیط، رفع آلودگی از خاک‌ها که در طی انواع فرآیندهای صنعتی آلوده شده‌اند، ضرورتی اساسی به‌شمار می‌رود. در صورتی که خاک آلوده اصلاح و پاکسازی نشود و آلاینده‌های موجود، حذف و یا تجزیه نشوند، آلاینده‌ها به‌تدریج در عمق خاک نفوذ می‌کنند و علاوه بر آلودگی خاک باعث آلودگی سفره‌های آب زیرزمینی که یکی از مهم‌ترین منابع تأمین آب در بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران است، می‌گردد. فرآیندهای فیزیکی و شیمیایی بسیاری برای رفع آلودگی جزئی یا کامل از مکان‌های آلوده به‌کار می‌رود. اما در حال حاضر، نویدبخش‌ترین روش برخورد با محیط خاک آلوده، استفاده از توانایی کاتابولیک موجودات زنده است [3]. روش‌های زیستی در اکثر موارد راهکارهای آسان، دائمی، ارزان و مؤثر جهت اصلاح خاک آلوده محسوب می‌شوند. البته عوامل متعددی روش اصلاح زیستی آلاینده‌ها توسط میکروارگانیسم‌ها را محدود می‌کند که از آن جمله می‌توان به غلظت آلاینده، دسترسی میکروارگانیسم‌ها به مواد آلاینده و مواد غذایی، شرایط مناسب برای رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها مانند pH، درجه حرارت و میزان رطوبت مناسب، اکسیژن کافی، مواد غذایی در دسترس و عدم وجود مواد سمی اشاره نمود. یکی از روش‌های اصلاح زیستی، روش کمپوست کردن است که به‌صورت عملیات افزودن مواد آلی به خاک تعریف می‌شود [4, 5]. از مواد آلی اصلاح کننده‌ای که معمولاً مورد استفاده قرار می‌گیرند می‌توان به انواع کودها، لجن فاضلاب، تکه‌های چوب، ضایعات باغی و پسماندهای غذایی اشاره نمود. از این روش به‌دلیل هزینه‌های سرمایه‌گذاری و بهره‌برداری نسبتاً کم، طراحی و اجرای ساده و راندمان‌های اصلاح نسبتاً بالا، استقبال خوبی برای پاک‌سازی خاک آلوده شده است. در این روش می‌توان با بهبود شرایط محیطی، به نرخ‌های تجزیه هیدروکربنی بالاتر و راندمان حذف آلاینده‌ی بیش‌تری نسبت به روش‌های دیگر اصلاح زیستی دست یافت و پایداری، توسعه و استفاده‌ی مجدد خاک را ارتقا داد [6, 7]. برای تجزیه‌ی سوخت‌های نفتی با ساختار شیمیایی پیچیده هم‌چون گازوئیل به کنسرسیومی از میکروارگانیسم‌ها نیاز است و در این راستا مواد آلی هم‌چون کود گاوی غنی از میکروارگانیسم های تجزیه کننده ترکیبات مقاوم به تجزیه، شامل باکتری‌ها، اکتینومیست‌ها و قارچ‌های لیگنولیتیک می‌باشند که م توانند آلاینده‌ها را به شکلی که مزاحمتی در محیط ایجاد نکنند، تجزیه نمایند [3, 7]. دلیل انتخاب گازوئیل به‌عنوان آلاینده در این مطالعه، مصرف زیاد این فرآورده‌ی نفتی در ایران و بسیاری از کشورهای جهان است. روزانه حجم قابل‌توجهی از این فرآورده در مخازن زیرزمینی و ایستگاه‌های سوخت‌گیری ذخیره می‌شود که در اثر نشت از این مخازن، خطری برای خاک و منابع آبی مجاور محسوب می‌شود و از طرف دیگر تصادف تانکرها و وسایل نقلیه‌ی سنگین و حوادث نفتکش‌ها خود خطر جدی برای آلودگی محیط خاکی به این مواد تلقی می‌گردد. هدف این مطالعه، استفاده از شرایط طبیعی فرآیند

کمپوست هوازی جهت حذف بیش‌تر آلاینده‌های هیدروکربنی از خاک است. لذا سعی شده است با افزودن مقادیر مختلف کود گاوی به‌عنوان ماده غذایی میکروارگانیسم‌ها و ارتقای شرایط رشد و فعالیت آن‌ها، تغییرات نسبت C/N، C/P، فعالیت و تعداد کل میکروارگانیسم‌ها و میزان کاهش مقدار کل هیدروکربن‌ها مورد بررسی قرار گیرد.

مواد

خاک غیرآلوده مورد استفاده در این پژوهش از منطقه‌ی قاسم آباد مشهد (پشت جایگاه پمپ بنزین میدان امام علی) و از عمق صفر تا سی سانتی‌متری خاک برداشت گردید. بافت خاک مورد مطالعه با استفاده از دستگاه تعیین فیزیک خاک لوم شنی (Sandy Loam) تشخیص داده شد. این خاک پس از هوادهی، خشک کردن و کوبیدن، از الک دو میلی‌متری عبور داده شد و سپس روی صفحه‌ی پلاستیکی ریخته شد. برای آلوده کردن خاک به گازوئیل، گازوئیل روی خاک پهن‌شده با درصد آلودگی ٦٪ وزنی به آرامی پاشیده شد (Spray) تا به تمام منافذ خاک برسد. پس از گذشت ۱۰ روز هوا خشک شدن خاک و خارج شدن هیدروکربن‌های فرار، خاک حاصل خوب به‌هم زده شد. طی این ۱۰ روز، خاک در حد ٦۰ درصد ظرفیت مزرعه با پاشیدن آب مقطر و زیر و رو کردن، در رطوبت مناسب نگهداری گردید [8, 9]. برای تأمین مواد غذایی و تقویت جمعیت میکروبی در توده‌ی خاک از کود آلی (گاوی) به‌عنوان اصلاح کننده آلی استفاده شد. کود مذکور از بخش فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید. برای یک‌نواخت‌سازی بیش‌تر، کود گاوی ابتدا در هوای آزاد خشک و سپس از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. برای تهیه‌ی تیمارها، ابتدا کود گاوی به رطوبت وزنی ۱۵٪ رسید و سپس به تیمارها به‌مقدار تعیین شده افزوده شد. برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک غیرآلوده و کود گاوی در جدول (۱) آمده است. از میان مواد نفتی موجود، سوخت گازوئیل به‌عنوان آلاینده انتخاب گردید. این ماده از جایگاه پمپ بنزین قاسم آباد (میدان امام علی) خریداری شد.

روش‌ها

برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و کود گاوی مورد استفاده پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری تعیین گردیدند. این خصوصیات شامل بافت خاک به روش هیدرومتری (جی و بادر)، pH نمونه‌های خاک در گل اشباع (مک لین)، قابلیت هدایت الکتریکی عصاره‌ی گل اشباع به‌وسیله‌ی دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی، نیتروژن کل به‌روش کجلدال و کربن آلی به روش اکسایش با دی‌کرومات (والکی و بلاک) و فسفر کل به‌روش هضم با اسید سولفوریک به‌دست آمد. جهت استخراج هیدروکربن‌های نفتی از خاک از روش استخراج حرکتی (Shaking) استفاده شد. روش استخراج حرکتی توسط کمیسیون استاندارد اتحادیه اروپا (CEN) در سال ۲۰۰٤ به‌صورت استاندارد ارائه شد [10]. استخراج TPH از خاک با استفاده از حلال دی کلرومتان (DCM) که از مناسب‌ترین حلال‌ها برای استخراج ترکیبات نفتی می‌باشد، انجام گرفت.

جدول ۱ خصوصیات فیزیکوشیمیایی اولیه‌ی خاک و کود گاوی

مواد	OC (%)	TN (%)	TP (%)	pH	SP (%)	EC (dS/m)	شن (٪)	لای (٪)	رس (٪)
خاک	۰/۳۵	۰/۰۲۵	۰/۰۱۹	٧/٤٢	۲۵/۸۵	۰/۹۵	۵۸	۳۲	۱۰
کود گاوی	۱۳/۵۱	۱/۳۵	۰/۹۰٤	٧/٥٦	–	۳/۲۵	–	–	–

برای استخراج گازوئیل از خاک بدین روش، ۱۰ گرم از نمونه با ۵ گرم سولفات سدیم انیدرید در لوله‌ی سانتریفیوژ ریخته و سپس به مخلوط حاصل ۲۵ میلی‌لیتر حلال دی کلرومتان اضافه و توسط تکان‌دهنده‌ی مکانیکی (Shaker) با سرعت ۱۲۰ سیکل در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه تکان داده‌شد. محلول حاصل دی فاز شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با g ۳۰۰۰ قرار داده شد. بعد از این‌که فرآیند سانتریفیوژ به اتمام رسید، با دقت و احتیاط، لوله از دستگاه خارج شد و محلول استخراج شده توسط کاغذ صافی PTFE فیلتر شد و محلول فیلتر شده درون ویال شیشه‌ای ریخته شد. این روند برای یک نمونه خاک سه بار تکرار شد تا آخرین مایع حاصل از استخراج، شفافیتی نزدیک به شفافیت DCM خالص را نشان دهد. در انتهای استخراج هر یک از نمونه‌ها، حجم محلول حاصل به ۵۰ میلی‌لیتر و جهت آنالیزهای بعدی در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شد [11].

جهت تعیین مقادیر کمی هیدروکربن‌های باقی‌مانده از دستگاه گاز کروماتوگراف VARIAN مدل CP-3800 طبق روش استاندارد EPA 8015B استفاده شد. از هر نمونه عصاره، توسط سرنگ ویژه‌ای دو میکرولیتر عصاره به دستگاه مذکور که مجهز به دتکتور یونیزاسیون شعله‌ای (FID) و ستون DB-1 (با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۵۳ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۱/۵ میکرومتر) بود، تزریق شد. برای تعیین مقدار کمی TPH باقی‌مانده در عصاره‌ها از منحنی استاندارد استفاده گردید. در این راستا، نمونه خاک‌هایی به وزن ۱۰۰ گرم با نسبت وزنی ۱، ۲، ٤، ٦ و ۸ درصد به گازوئیل آلوده شدند. پس از آنالیز گاز کروماتوگرافی و تهیه‌ی کروماتوگرام ها، سطوح زیر تمام پیک‌های ایجادشده بین زمان‌های ۷ تا ۲۵ دقیقه با هم جمع شدند و طبق داده‌های به‌دست آمده با کمک منحنی استاندارد نقاطی روی نمودار رسم گردید.

آنالیز میکروبی به‌صورت کلنی کانت به‌روش کشت آمیخته انجام شد. برای تهیه‌ی سوسپانسیون خاک ابتدا ۱۰ گرم خاک خشک شده در آون وزن شد و داخل بشر استریل ریخته شد. این بشر حاوی ۹۰ میلی‌لیتر محلول استریل سرم فیزیولوژی سیلین (محلول نه در هزار نمک طعام) و ۱۰ گرم نمونه خاک است. سپس برای پراکنده کردن خاک، به‌وسیله‌ی هم‌زن مکانیکی با سرعت ۵۰ دور در دقیقه و به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شد. رقت به‌دست آمده 10^{-1} می‌باشد و سپس برای انجام آزمایش‌ها، سری رقت تهیه گردید. در تعیین تعداد میکروارگانیسم‌ها، از محیط کشت پلیت کانت آگار (P.C.A) ساخت شرکت QLab کانادا (٪۰/۵پپتن، ٪۰/۲۵ عصاره‌ی مخمر، ٪۰/۱ قند گلوکز خالص و٪۱/۵ آگار) استفاده گردید. در ادامه، یک میلی‌لیتر از هر رقت را روی ظروف پتری ریخته و از محیط کشت P.C.A، ۹ تا ۱۰ میلی‌لیتر به‌روش کشت آمیخته نیز بر روی نمونه ریخته شد. محیط‌های کشت‌شده به‌مدت ۲٤ الی ٤۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ قرار داده شد و بعد از این مدت با استفاده از دستگاه کلنی کانتر ظروف پتری مورد بررسی قرار داده‌شد و شمارش پرگنه (کلنی) انجام گرفت. با دانستن تعداد پرگنه‌های تشکیل‌شده و فاکتور رقت، تعداد واحدهای تشکیل دهنده‌ی کلنی(CFU) در هر گرم خاک خشک محاسبه گردید [12].

$$\textbf{تعداد میکروارگانیسم‌های زنده‌و فعال} = \frac{\textbf{تعداد کلنی‌ها}}{\textbf{درجه رقت}}$$

طراحی آزمایش

در این آزمایش، اثر کود گاوی در ٤ نسبت اختلاط ۱ به ۰/۱۵ (شماره‌ی ۱)، ۱ به ۰/۳ (شماره‌ی ۲)، ۱ به ۰/۵ (شماره‌ی ۳) و ۱ به ۱ (شماره‌ی ٤) کود به خاک وزنی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار بر تجزیه‌ی

زیستی و شیمیایی گازوئیل در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید. شایان ذکر است که از تیمار خاک آلوده تنها بدون هیچ‌گونه کود گاوی به‌صورت سترون شده به‌عنوان نمونه‌ی کنترل استفاده شد. برای تهیه‌ی تیمار کنترل، خاک غیرآلوده در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ psi به‌مدت یک ساعت و در ۳ روز متوالی اتوکلاو گردید و سپس گازوئیل با درصد آلودگی ٦٪ به آن اضافه شد. تیمارهای خاک آلوده در اتاقی تحت شرایط نور و دمای کنترل‌شده بین ۳۰ – ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در طول ۱۱ هفته تحت فرآیند اصلاح زیستی در جا (In Situ) قرار گرفت. در طول مدت آزمایش، به‌منظور ایجاد شرایط محیطی مناسب برای فعالیت میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده‌ی هیدروکربن‌های نفتی، رطوبت خاک‌های تیمار شده در حد ۲۰ – ۱۵ درصد رطوبت وزنی با افزودن آب مقطر به تناوب ۲ مرتبه در هفته حفظ می‌شد و دو بار در هفته برای ایجاد شرایط هوازی زیر و رو و مخلوط می‌شدند.

آنالیز واریانس داده‌ها به‌وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS برمبنای طرح کاملاً تصادفی و مقایسه‌ی میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

بررسی تغییرات C/N و C/P. همان‌طور که می‌دانیم، هیدروکربن‌های نفتی دارای غلظت‌های بسیار کمی از ترکیبات معدنی می‌باشند و با وارد شدن آن‌ها به خاک نسبت کربن به نیتروژن و کربن به فسفر به مقدار زیادی افزایش می‌یابد و رشد میکروارگانیسم‌ها را در این شرایط محدود می‌سازد [8, 13]. پس از آن‌جایی که ارگانیسم‌های مختلف، نوع و میزان متفاوتی از نیتروژن و فسفر را نیاز دارند، لازم است در بررسی فرآیند تجزیه‌ی زیستی نسبت و نوع ماده‌ی غذایی بهینه مورد بررسی قرار گیرد [14]. برای تعیین نسبت‌های C/N و C/P، درصد کربن آلی، نیتروژن کل و فسفر کل نمونه‌ها در ابتدا، پایان هفته‌ی پنجم و هفته‌ی یازدهم اندازه‌گیری شد (جدول ۲). همان‌طور که مشاهده می‌شود با آلوده ساختن خاک به گازوئیل، مقدار کربن آلی تیمارها نسبت به خاک اولیه افزایش داشته است. افزایش ناگهانی در مقدار کربن آلی خاک ناشی از آلودگی نفتی است که این مطلب را Jobson و همکاران نیز تأیید می‌کنند [15,16]. مقدار نیتروژن کل و فسفر کل در خاک آلوده نسبت به مقدار کربن آلی افزایش زیادی نداشت که دلیل آن می‌تواند وجود مقادیر کم ترکیبات معدنی در گازوئیل باشد.

جدول ۲ درصد کربن آلی، نیتروژن کل و فسفر کل در تیمارهای مورد مطالعه*

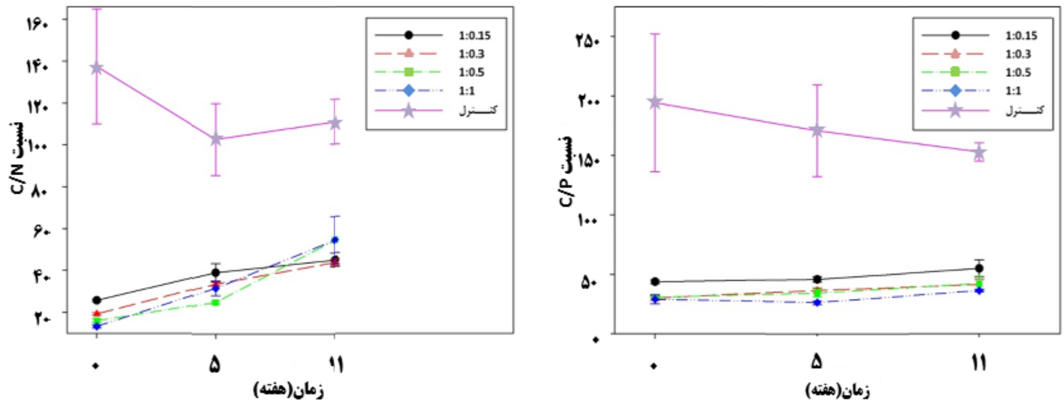
تیمارها	ابتدا			هفته‌ی ۵			هفته‌ی ۱۱		
	کربن آلی (OC) ٪	نیتروژن کل (TN) ٪	فسفر کل (TP) ٪	کربن آلی (OC) ٪	نیتروژن کل (TN) ٪	فسفر کل (TP) ٪	کربن آلی (OC) ٪	نیتروژن کل (TN) ٪	فسفر کل (TP) ٪
١:٠/١٥	٦/٤٧ ± ٠/٤٨	٠/٢٥ ± ٠/٠٢	٠/١٤٨ ± ٠/٠١١	٦/١٨ ± ٠/٢٨	٠/١٦ ± ٠/٠٢	٠/١٣٦ ± ٠/٠١٣	٦/٥٤ ± ٠/٣١	٠/١٥ ± ٠/٠٢	٠/١٢٤ ± ٠/٠١٩
١:٠/٣	٧/٥٣ ± ٠/٢٦	٠/٣٩ ± ٠/٠٢	٠/٢٥٤ ± ٠/٠٢٦	٨/٠٧ ± ٠/٥٠	٠/٢٤ ± ٠/٠١	٠/٢٢٣ ± ٠/٠٢٤	٨/٣٨ ± ٠/٢٥	٠/١٩ ± ٠/٠١	٠/٢٠٨ ± ٠/٠٢٨
١:٠/٥	٨/٢٩ ± ٠/٤١	٠/٥٢ ± ٠/٠٤	٠/٢٧٢ ± ٠/٠٢٠	٧/٦٤ ± ٠/١٩	٠/٣١ ± ٠/٠٣	٠/٢٢٦ ± ٠/٠٢٤	٨/١٠ ± ٠/١٦	٠/١٦ ± ٠/٠٣	٠/٢٠٣ ± ٠/٠٣٧
١:١	٩/٨٥ ± ٠/٢٦	٠/٧٥ ± ٠/٠٦	٠/٣٥٣ ± ٠/٠٥٢	٨/٠٩ ± ٠/٣٨	٠/٢٦ ± ٠/٠٤	٠/٣٠٩ ± ٠/٠٣٥	٩/٩٣ ± ٠/٥٤	٠/١٣ ± ٠/٠١	٠/٢٧٥ ± ٠/٠٢٢
کنترل	٥/٠٣ ± ٠/٠٩	٠/٠٤ ± ٠/٠١	٠/٠٣١ ± ٠/٠٠٩	٤/٤٣ ± ٠/١٠	٠/٠٥ ± ٠/٠١	٠/٠٣٠ ± ٠/٠٠٩	٤/٣٧ ± ٠/٦٠	٠/٠٤ ± ٠/٠٠١	٠/٠٢٩ ± ٠/٠٠٥

*مقادیر ارائه شده، میانگین تیمارها همراه با خطای استاندارد آنها می‌باشد ($n = ۳$).

در تمام تیمارها بجز تیمار ۲ و کنترل، مقدار کربن آلی تا هفته‌ی پنجم کاهش نشان داد و سپس در هفته‌ی یازدهم دوباره افزایش یافت. شاید علت آن افزایش تجزیه‌ی کربن آلی گازوئیل تا هفته‌ی پنجم باشد و بعد از گذر از این زمان با شکل‌گیری محصولات مقاوم و کم‌تر شدن میزان در دسترس زیستی کربن آلی، مقدار آن دستخوش افزایش شده است. در تیمار ۲ مقدار کربن آلی روند رو به افزایشی طی دوره‌ی آزمایش از خود نشان داد و از مقدار ۷/۵۳ درصد در ابتدا به ۸/۰۷ درصد در هفته‌ی پنجم و به ۸/۳۸ درصد در هفته‌ی یازدهم (پایان آزمایش) رسید. در ابتدا و پایان آزمایش، مقدار کربن آلی در تیمارهای ۲ و ۳ دارای تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد نبود در صورتی‌که در هفته‌ی پنجم، اختلاف مقدار کربن آلی تیمارهای ۲، ۳ و٤ معنی‌دار نشد. در ابتدای آزمایش با افزودن کود گاوی، مقدار نیتروژن کل در تیمارهای اصلاح شده افزایش یافت که البته میان درصد نیتروژن در تیمارهای ۲ و۳ تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. مقدار نیتروژن کل در طول آزمایش در تمام تیمارها به‌جز تیمار کنترل روند کاهشی داشت که آن را می‌توان به دلیل مصرف آسان و سریع نیتروژن در دسترس توسط جمعیت باکتریایی برای تجزیه‌ی هیدروکربن‌ها دانست. Odokuma و همکاران [17] همین نتیجه را تأیید کردند و آن را ناشی از تبدیل یون‌های نیترات به فرم گازی نیتروژن می‌دانند که به‌وسیله یک سری واکنش‌های بیوشیمیایی کاهشی توسط باکتری‌های شوره بردار (دی نیتریفایر) مانند سودوموناس (Pseudomonas)، باسیلوس (Bacillus) و میکروکوکوس (Micrococcus) صورت می‌گیرد و به هوا خارج می‌شود. در پایان آزمایش مقدار نیتروژن کل تیمارهای اصلاح شده به سطح ثابتی رسیدند و اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد میان آن‌ها مشاهده نشد.

با توجه به جدول (۲) مقدار فسفر کل در تمام تیمارها در طول مطالعه کاهش پیدا کرد، اما این کاهش در ۵ هفته‌ی ابتدایی نرخ بیش‌تری نسبت به ٦ هفته‌ی بعدی داشت. طبق گفته‌ی Sarkar و همکاران [8]، میکروارگانیسم‌ها بین هفته‌ی اول و پنجم، مواد مغذی را به مصرف متابولیک خود می‌رسانند و P در دسترس زیستی کاهش پیدا می‌کند. بعد از هفته پنجم با شروع مرگ میکروب‌ها، سطح P در دسترس زیستی به مقدار ثابتی رسید و تا انتهای آزمایش در همان سطح باقی ماند. میان خاک‌های تیمار شده با کود، تیمار ٤ با ۰/۳۵۳ درصد بیش‌ترین و تیمار ۱ با ۰/۱٤۸ درصد کم‌ترین مقدار فسفر کل را دارا بودند. بررسی نتایج نشان داد که فسفر کل در مقایسه با نیتروژن کل در تمام تیمارها با نرخ کم‌تری کاهش یافته است. محققان زیادی نسبت‌هایی برای این مواد غذایی بیان کردند اما تنوع این نسبت‌ها زیاد است و توافق کلی در مورد آن‌ها وجود ندارد [18]. نسبت بهینه‌ی گزارش‌شده در مقالات ۱۰۰:۱۵:۳ برای تجزیه‌ی هیدروکربن است [8]. نتایج مربوط به نسبت‌های C/N و C/P در دوره‌های ابتدا، هفته‌ی پنجم و هفته یازدهم در شکل (۱) آورده شده است.

همان‌طور که در شکل (۱) مشاهده می‌شود نسبت C/N در همه‌ی تیمارها جز تیمار کنترل در طول آزمایش افزایش یافت. بیش‌ترین مقدار افزایش C/N در تیمار ٤ مشاهده شد. در این تیمار، نسبت C/N از مقدار اولیه ۱۳/۲ به ۳۱/۷ رسید که رشد ۱/٤ برابری را در ۵ هفته ابتدایی نشان می‌دهد و در انتهای آزمایش به مقدار ۸۰/۸ افزایش یافت و ثبت گردید. نسبت C/N در تیمارهای کود گاوی در ابتدای آزمایش و انتهای هفته پنجم اختلاف معنی‌داری نداشت در حالی که در پایان آزمایش، بین میانگین C/N تیمار ٤ با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد به‌دست آمد. کم‌ترین مقدار افزایش C/N در تیمار ۱ مشاهده گردید که از مقدار اولیه ۲۵/۷ به ۳۹/۲ در پایان هفته‌ی پنجم رسید و رشد ۵۲ درصدی را نشان می‌دهد. نسبت C/N در این تیمار ٤۵/۲ در هفته‌ی یازدهم اندازه‌گیری شد.



شکل ۱ تغییرات C/N و C/P نسبت به زمان در تیمارهای مورد مطالعه
(خطای نشان داده شده، خطای استاندارد میانگین تیمارها با n=۳ تکرار می‌باشد.)

بیش‌ترین مقدار نسبت C/P در ابتدای آزمایش ۴۳/۸ در تیمار ۱ به‌دست آمد و کم‌ترین مقدار مربوط به تیمار ٤ با ۲۹ بود و تفاوت معنی‌داری میان آن‌ها وجود نداشت (p <۰/۰۵). مقادیر C/P تمام تیمارها در طول آزمایش جز تیمار کنترل روندی افزایشی داشت که این افزایش در ٦ هفته‌ی دوم دارای نرخ بیش‌تری نسبت به ۵ هفته‌ی ابتدایی بود که نشان از رشد و فعالیت بیش‌تر میکروارگانیسم‌ها و مصرف بیش‌تر فسفر در دسترس تا هفته‌ی پنجم دارد. در مقادیر C/P تیمارهای کود گاوی در کل دوره‌ی مطالعه، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد میان تیمارهای کود گاوی مشاهده نگردید. طبق گفته‌ی Sarkar و همکاران [8] میزان در دسترس بودن زیستی مواد غذایی تنها عامل مؤثر تجزیه‌ی TPH نیست. Adesodun و همکاران [19] در مطالعات خود نشان دادند که اثرات مثبت کود گاوی بر افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی، کربن آلی و ازت کل خاک تا ۱۸ سال بعد از کاربرد این کود می‌تواند ادامه داشته باشد.

آنالیز شمارش میکروبی

تعداد کل میکروارگانیسم‌های زنده در خاک غیرآلوده و کود گاوی به ترتیب $۱/۵ \times ۱۰^{۵}$ و $۱/۲ \times ۱۰^{٦}$ CFU/g بود. پس از آلوده کردن خاک به گازوئیل، جمعیت کل میکروبی کاهش یافت. با توجه به این‌که تعداد میکروارگانیسم‌ها در کود گاوی در حالت عادی بالاست ولی همان‌طور که در جدول (۳) مشاهده می‌شود، در نقطه‌ی شروع، چون باکتری‌ها به مواد و ترکیبات نفتی خاک سازگاری نداشتند از تعداد اولیه‌ی آن‌ها کاسته شد و هم‌چنین در شروع رشد دارای فاز تأخیر طولانی‌تر بودند و دیرتر به فاز لگاریتمی رسیدند. میان تعداد کل میکروارگانیسم‌های (TCM) تیمارهای اول و سوم و TCM تیمارهای دوم و چهارم در ابتدای آزمایش تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نشد.

تعداد کل میکروارگانیسم‌های زنده بعد از گذشت ۵ هفته افزایش چشم‌گیری داشتند. این افزایش احتمالاً می‌تواند به دلیل تحمل شرایط محیطی نامناسب ابتدایی یا مصرف گازوئیل به‌عنوان کربن باشد و کود گاوی اثر مثبتی روی سازگاری این میکروارگانیسم‌ها به شرایط موجود داشته است [20]. در تیمار چهارم از $٦/۵۱ \times ۱۰^{۵}$ به $۳/۱۵ \times ۱۰^{۷}$ CFU/g رسید که رشدی حدود ۵۰ برابر را نشان می‌دهد. میانگین تعداد کل میکروارگانیسم‌های این تیمار در پایان هفته‌ی پنجم تفاوت معنی‌داری از نظر آماری با دیگر تیمارها داشت. باکتری‌های کود گاوی به‌دلیل دارا بودن تنوع، مشارکت و رقابت میکروبی، عملکرد مناسبی نشان دادند و نقش مؤثری در تجزیه‌ی زیستی گازوئیل داشتند. این در

حالی است که میان سه تیمار اول، دوم و سوم اختلافی دیده نشد (p >۰/۰۵). کم‌ترین میزان رشد میکروارگانیسم‌ها در تیمار ۲ اتفاق افتاد که از $۱۰^{۵}$ × ۶/۸۲ به $۱۰^{۶}$ × ۹/۸۹ CFU/g افزایش یافت که شاهد رشد ۱۵ برابری بود. جمعیت میکروبی در پایان آزمایش در تمام تیمارهای کود گاوی کاهش داشت. کاهش جمعیت میکروبی شاید مرتبط با تهی شدن مواد غذایی غیر آلی در دسترس در پایان آزمایش باشد که ناشی از مصرف زیاد کربن آلی است. با توجه به تغییرات C/N تا پایان هفته‌ی پنجم، میکروارگانیسم‌ها در پایان هفته‌ی پنجم دارای بیش‌ترین رشد بودند که دلیلی بر وجود شرایط محیطی مساعدتر و سازگاری با محیط آلوده تا این زمان است. لذا طبق داده‌های به دست آمده نسبت‌های C/N و C/P در تیمارها، می‌توان استنباط کرد که مقدار کود گاوی مورد استفاده، نسبت C/N و شرایط محیطی روی جمعیت میکروبی و حذف گازوئیل مؤثر بودند. با توجه به داده‌های به‌دست آمده، بیش‌ترین کاهش مربوط به تیمار چهارم بود که از $۱۰^{۷}$ × ۳/۱۵ در هفته‌ی پنجم به $۱۰^{۶}$ × ۹/۶۹ CFU/g در انتهای آزمایش کاهش یافت. در پایان آزمایش، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد میان میانگین TCM تیمارهای ۱، ۲ و ۳ مشاهده نشد اما در مقایسه با تیمار ٤ تفاوت معنی‌داری داشت. در مطالعه‌ی Ting و همکاران [7] جمعیت میکروبی بعد از رشد اولیه، کاهش و سپس دوباره افزایش یافت. این الگو شاید به روابط متقابل جمعیت‌های مختلف میکروبی با یکدیگر و تغییرات شرایط محیطی مربوط باشد. با توجه به جدول (۳)، TCM در تیمار کنترل در طول آزمایش روند افزایشی داشت به‌طوری‌که از $۱۰^{٤}$ × ۱/۶ در هفته‌ی پنجم به $۱۰^{٤}$ × ۲/۵ CFU/g در پایان آزمایش افزایش یافت که البته رشد قابل ملاحظه‌ای را نشان نمی‌دهد (p >۰/۰۵). Odokuma و Dickson [17] رفتار مشابهی مشاهده کردند و بیان کردند که سمیت نفت خام در واحد کنترل باعث کم‌ترین میزان نرخ رشد شده است. در پایان آزمایش، با افزایش نسبت C/N در تمام تیمارها، کاهش محسوس و قابل‌توجه‌ای در تمام تیمارها به‌جز تیمار کنترل به‌دست آمد، در حالی که میان تعداد کل میکروارگانیسم‌های تیمارهای ۱، ۲ و ۳ در هفته‌ی یازدهم، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نگردید. خصوصیات فیزیکوشیمیایی و زیستی خاک آلوده از اهمیت زیادی برخوردار است چنان‌که موفقیت در اصلاح زیستی اصولاً به سطح سازگاری متابولیکی و ژنتیکی جمعیت میکروبی نسبت به محیط خود بستگی دارد [5]. افزایش آنی دانسیته‌ی میکروارگانیسم‌های بومی، تجزیه‌ی سریع آلاینده را تضمین می‌کند [21].

جدول ۳ تعداد کل میکروارگانیسم‌های زنده در تیمارهای مورد مطالعه

تیمارها	(CFU/g) ×۱۰۵		
	ابتدا	هفته ۵	هفته ۱۱
۰/۱۵:۱	٤/۲٤ ± ۰/۶۶A	۹۵/۶۰ ± ۷/۸۸A	٤۰/۸۰ ± ۵/٤۳A
۰/۳:۱	۶/۸۲ ± ۰/۷۵B	۹۸/۹۰ ± ۱۳/۳٤A	۳۱/٤۰ ± ۳/۵۳A
۰/۵:۱	٤/۰۳ ± ۰/۳٤A	۸۲/۷۰ ± ۸/۷۶AB	۳۹/۲۰ ± ۵/۱۵A
۱:۱	۶/۵۱ ± ۰/۹۱B	۳۱۵/۳۳ ± ۵۶/۸۵	۹۶/۹۱ ± ۷/٤۵
کنترل	۰/۰۲ ± ۰/۰۱	۰/۱۶ ± ۰/۰۵	۰/۲۵ ± ۰/۰۷

مقادیر ارائه شده، میانگین تیمارها همراه با خطای استاندارد آن‌ها می‌باشد(n =۳).

اعداد هر ستون با حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشند.

جدول ٤ : غلظت TPH باقی‌مانده در تیمارهای مورد مطالعه

تیمارها	غلظت اولیه TPH (mg/kg)	غلظت TPH باقی‌مانده درهفته‌ی ۵ (mg/kg)	غلظت TPH باقی‌مانده درهفته‌ی ۱۱ (mg/kg)
۱:۰/۱۵	٤۵۷٦۱ ± ۱۹۲۹	۳۲۱۰۸ ± ۱٤۹۲	۲۸۷٦۸ ± ۱۳۷۵
۱:۰/۳	٤۷۱۰۲ ± ٤۵۲٦	۳۲۰۵۲ ± ۱۱۸۱	۲۷۵۸۵ ± ۲۵۷۲
۱:۰/۵	۵۵۸٤۸ ± ۲۱۳۰	۲۸۱۳۳ ± ۲۵٦۹	۲۳۷۰۹ ± ۱۸٦۱
۱:۱	۵٤۰٦۸ ± ۲۰۲٦	۲۹۸۸۷ ± ۲٦۰۳	۲۰۳٤۷ ± ۱۰۰۵
کنترل	٤۱۳۱۳ ± ۱۸٤٤	۳۷۵۳۲ ± ۲۸۵٦	۳۸۰٦۷ ± ۱۷٤۹

مقادیر ارائه شده، میانگین تیمارها همراه با خطای استاندارد آن‌ها می‌باشد(n =۳).

جدول ۵ درصد حذف TPH در تیمارهای مورد مطالعه

تیمارها	هفته ۵	هفته ۱۱	
	درصد حذف نسبت به ابتدا	درصد حذف نسبت به دوره قبل	درصد حذف نسبت به ابتدا
۱:۰/۱۵	۲۹ ± ٦A	۱۰ ± ۸A	۳۷ ± ۵A
۱:۰/۳	۳۱ ± ٤A	۱٤ ± ۵AB	٤۱ ± ۱A
۱:۰/۵	۵۰ ± ۳B	۱۵ ± ۵AB	۵۸ ± ۲B
۱:۱	٤۵ ± ۳B	۳۰ ± ۹B	٦۲ ± ۳B
کنترل	۹ ± ۳	-۲ ± ۱A	۸ ± ۲

مقادیر ارائه شده، میانگین تیمارها همراه با خطای استاندارد آن‌ها می‌باشد(n =۳).

اعداد هر ستون با حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشند.

تجزیه‌ی هیدروکربن‌های نفتی

همان‌طور که در جدول (٤) مشاهده می‌شود در همه‌ی تیمارها، در ۵ هفته‌ی ابتدایی، مقدار کل هیدروکربن‌های نفتی (TPH) شاهد بیش‌ترین کاهش بودند که در این میان تیمار ۱:۰/۵ با ۵۰ درصد کاهش، حداکثر مقدار حذف TPH و تیمار کنترل با ۹ درصد کاهش، حداقل مقدار حذف TPH را به خود اختصاص دادند. از میان تیمارهای اصلاح‌شده، تیمار ٤ از مقدار اولیه‌ی ۵٤۰٦۸ به mg/kg ۲۹۸۸۷ در پایان هفته‌ی پنجم و به مقدار ۲۰۳٤۷ در پایان آزمایش رسید که به‌ترتیب کاهش ٤۵ و ٦۲ درصدی را در پایان هفته‌ی پنجم و انتهای آزمایش نشان می‌دهد و تیمار ۱ از مقدار ٤۵۷٦۱ به mg/kg ۳۲۱۰۸ در پایان هفته‌ی پنجم و به مقدار mg/kg ۲۸۷٦۸ در پایان دوره‌ی آزمایش رسید که به‌ترتیب شاهد حذف ۲۹ و ۳۷ درصدی در پایان هفته‌ی پنجم و انتهای آزمایش بود. نتایج نشان می‌دهد که کاربرد کود باعث افزایش تجزیه‌ی هیدروکربن‌ها شده است زیرا در تیمار کنترل که هیچ‌گونه کودی دریافت نکرده، TPH افزایش یافته است. زیاد شدن TPH در تیمار کنترل را می‌توان به‌دلیل وجود شرایط بی‌هوازی دانست. در نتیجه، با کمبود اکسیژن، تجزیه بی‌هوازی منجر به تشکیل مواد آلی هیدروکربنی مانند متان و دی اکسیدکربن می‌شود که متان خود یک هیدروکربن است و مقدار TPH را افزایش می‌دهد.

با مقایسه‌ی درصد حذف TPH در تیمارهای کود گاوی با تیمار کنترل در دوره زمانی ۵ هفته و پایان

آزمایش، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده گردید. در این میان با توجه به جدول (۵)، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بین درصد حذف TPH تیمارهای اول و دوم پس از گذشت پنج هفته دیده نمی‌شود که نشان از وجود شرایط محیطی تقریباً یکسان در این تیمارها می‌باشد. تجزیه‌ی TPH عمدتاً در پنج هفته‌ی اول در تمام تیمارها از جمله تیمار کنترل صورت گرفت. با این‌که قسمتی از این کاهش، مربوط به فرآیند فراریت است، اما طبق گفته‌ی Sarkar و همکاران [8] حذف غیرزیستی دیزل در دمای ۲۵ ċ در ۳۰ روز ابتدایی، معمولاً کم‌تر از ۱۰ درصد گزارش شده است.

البته باید متذکر شد به‌دلیل این‌که تیمارها دارای مقادیر زیادی کودگاوی بودند از میزان فراریت نسبت به تیمار کنترل که هیچ‌گونه کودی دریافت نکرده بود، کاسته می‌شود. زیرا طبق گفته‌ی برخی محققان، مواد آلی هم‌چون لجن و کمپوست و کودهای آلی دارای ظرفیت جذب نسبتاً بالایی (Adsorption) در مقایسه با خاک هستند و این عوامل از فراریت آلکان‌های نرمال سبک‌تر در تیمارهای با نسبت اختلاط زیاد جلوگیری می‌کند [9]. در پایان آزمایش میان درصد حذف تیمارهای ۱:۰/۱۵ و ۱:۰/۳ به‌ترتیب با ۳۷ و ٤۱ درصد تفاوت معنی‌دار دیده نشد و همین رویه در مورد تیمارهای ۱:۰/۵ و ۱:۱ با درصد حذف کلی به‌ترتیب ۵۸ و ٦۲ نیز صدق می‌کرد. نسبت‌های اختلاط بالا الزاما سرعت تجزیه را افزایش نمی‌دهند، هر چند افزودن ماده‌ی اصلاح‌کننده باعث افزایش سرعت تجزیه‌ی ترکیبات نفتی می‌شود ولی افزودن بیش از حد ماده‌ی اصلاح‌کننده به خاک آلوده، ممکن است سرعت تجزیه را محدود کند و باعث به تأخیر افتادن تجزیه‌ی زیستی گردد. زیرا در این‌صورت منبع کربنی موجود در خود اصلاح‌کننده بر آلاینده تقدم می‌یابد و تجزیه‌ی زیستی آلاینده را با محدودیت روبه‌رو می‌کند. با بررسی نتایج می‌توان بیان نمود که روند حذف دیزل در تیمارها، دارای دو فاز مشخص در فرآیند اصلاح زیستی بود. بدین ترتیب که منحنی تجزیه‌ی زیستی TPH قبل از ۵ هفته‌ی ابتدایی کاهش سریعی داشت و پس از آن فاز حذف روند آهسته‌تری را نسبت به قبل تجربه کرد. Sang و همکاران [22] نیز در مطالعه‌ی خود بر پایل‌های زیستی نتایج مشابهی را گزارش دادند و عنوان کردند که راندمان تجزیه در فاز زمانی اول نسبت به فاز دوم بیش‌تر است و منحنی تغییرات در فاز دوم شیب کم‌تری پیدا کرده است. ایشان توضیح دادند که کاربرد مواد اصلاح‌کننده‌ی آلی در خاک‌های آلوده، مدت زمان لازم جهت حذف آلاینده را به‌مقدار قابل‌توجهی کاهش می‌دهد. Adesodun و همکاران [19] نیز افزودن فضولات خوکی، مرغی و گاوی بر خاک آلوده به روغن سوخته را بررسی کردند و بیان کردند که این مواد موجب تحریک زیستی این هیدروکربن‌ها می‌شود و کود گاوی در بلند مدت بیش‌ترین نرخ حذف TPH را داشته است.

نرخ تجزیه TPH

مدل‌سازی سینتیکی برای برآورد نرخ واکنش‌های شیمیایی در مطالعات انجام می‌گیرد. سینتیک یک واکنش شیمیایی به‌صورت درجه‌ی آن بیان می‌شود [8, 9]. برای تعیین درجه‌ی واکنش‌ها در تیمارهای خاک، داده‌ها به‌صورت نمودار پراکنده رسم می‌شود. اگر نمودار تغییرات ln[TPH] نسبت به زمان خط مستقیم باشد، واکنش از نوع درجه اول و اگر نمودار تغییرات 1/[TPH] نسبت به زمان خط مستقیم را توجیه کند، واکنش درجه دوم است. در حالی که محققان دیگر [9,12] واکنش تجزیه‌ی هیدروکربنی خود را به‌صورت مدل سینتیکی درجه اول توصیف کردند. در مطالعه‌ی حاضر نتایج TPH به‌تر با مدل سینتیکی درجه

دوم بیان شدند [8, 13, 18]. R^2 ضریب همبستگی را نشان می‌دهد. هر چه R^2 به یک نزدیک‌تر باشد، همبستگی داده‌ها بیش‌تر است. مقادیر R^2 برای نمودار خطی با استفاده از مدل درجه دوم بیش‌تر از موارد مشابه آن در مدل درجه اول به‌دست آمد (در تمام تیمارها جز تیمار کنترل). اگر شیب خط واکنش‌هایی که از درجه دوم تبعیت می‌کنند را برابر 8k در نظر بگیریم، k ثابت نرخ واکنش را نشان خواهد داد[8, 23]. ثابت‌های نرخ بیان‌کننده‌ی اثرات نسبی تیمارهای مختلف بر تجزیه‌ی TPH هستند (جدول ٦). با مقایسه ثابت نرخ تیمارهای ۳ و ٤، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نگردید.

همبستگی پارامترهای مورد مطالعه

همان‌طور که در جدول (۷) مشاهده می‌شود، تجزیه‌ی TPH به‌طور معنی‌داری با تعداد کل میکروارگانیسم‌ها رابطه‌ی مستقیم داشت. با حضور تعداد میکروارگانیسم‌های بیش‌تر، مقدار حذف و تجزیه‌ی هیدروکربن‌ها افزایش یافته است. در مورد رابطه‌ی نسبت‌های C/N و C/P با مقدار تجزیه TPH باید اظهار نمود که این نسبت‌ها با مقادیر بهینه‌ی خود که در مطالعات پیشین بیان شد، تفاوت داشتند و ضرایب همبستگی منفی نشان از تفاوت این نسبت‌ها و افزایش آن‌ها در طول دوره‌ی مطالعه بود. برای تأیید ارزیابی شرایط محیطی برای رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها، ارتباط نسبت C/N و C/P با تعداد کل میکروارگانیسم‌ها مورد بررسی قرار گرفت و همان‌طور که مشاهده می‌شود هر چه این نسبت‌ها از مقادیر بهینه‌ی خود فاصله گرفتند، از تعداد کل میکروارگانیسم‌ها کاسته شد.

جدول ٦ ثابت‌های نرخ واکنش تجزیه‌ی درجه دوم (k)

تیمارها	ثابت نرخ واکنش (k) (در روز)
۰/۱۵:۱	۲/۰۸۲۵ x ۱۰–۸
۰/۳:۱	۲/٤۳۳۸ x ۱۰–۸
۰/۵:۱	۳/۹۱۳۷ x ۱۰–۸
۱:۱	۵/۰۲۷۵ x ۱۰–۸
کنترل	۳/۲۲ x ۱۰–۹

جدول ۷ ضرایب همبستگی پارامترهای مورد استفاده در مطالعه

	TPH تجزیه شده	تعداد کل میکروارگانیسم ها	C/N	C/P
TPH تجزیه شده	۱	۰/۷۳۳	–۰/۷۰۹	–۰/٦۸٦
تعداد کل میکروارگانیسم‌ها	–	۱	–۰/۵۲٤	–۰/۵٤۹
C/N	–	–	۱	۰/۸۵۹
C/P	–	–	–	۱

نتیجه‌گیری

اصلاح زیستی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌های نفتی می‌تواند روشی مؤثر و سازگار با محیط زیست برای حل مشکلات آلودگی خاک باشد. طبق نتایج این تحقیق، فعال‌ترین تجزیه‌ی TPH در تیمار ۱:۱ خاک به کود گاوی مشاهده گردید (٦۲ درصد). البته در طول ۵ هفته‌ی ابتدایی میزان تجزیه‌ی TPH تیمار ۱:۰/۵ خاک به کود گاوی بیش‌ترین مقدار بود (۵۰ درصد). به هر حال در پایان آزمایش، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد اطمینان میان درصد حذف TPH در تیمارهای ۱:۱ و ۱:۰/۵ مشاهده نشد. با درنظر گرفتن درصد حذف و نرخ تجزیه‌ی TPH در این دو تیمار، افزودن بیش از نسبت ۱:۰/۵ کود گاوی، نقش معنی‌داری در حذف آلاینده‌ی مورد نظر نداشته است. بررسی درجه واکنش شیمیایی نشان داد که مدل سینتیکی درجه‌ی دوم، تجزیه‌ی TPH را به خوبی و با همبستگی بالا در تیمارها توصیف نمود (R^2=۰/۹۰۷ – ۰/۹۹۸). بررسی نسبت‌های C/N و C/P تیمارها در طول آزمایش نشان داد که این نسبت‌ها با گذشت زمان افزایش یافتند و از مقادیر بهینه‌ی خود فاصله گرفتند و در نتیجه با فرض ثابت بودن شرایط محیطی دیگر، باعث کاهش میزان تجزیه‌ی TPH شدند. در همین راستا، تعداد کل میکروارگانیسم‌ها در تمام تیمارها تا هفته‌ی پنجم روند افزایشی را نشان داد و پس از این زمان و در پایان آزمایش از تعداد آن‌ها کاسته شد. بیش‌ترین افزایش تعداد کل میکروارگانیسم‌ها در تیمار ۱:۱ خاک به کود گاوی مشاهده گردید. طبق نتایج به‌دست آمده همبستگی خوبی بین TPH تجزیه‌شده با مقادیر C/N و C/P و تعداد کل میکروارگانیسم‌ها وجود دارد که نشان از ارتباط و وابستگی این پارامترها با یکدیگر است (r =۰/۷۳۳). بنابراین با توجه به این‌که کود گاوی به مقدار فراوانی در کشور ما یافت می‌شود، روش کمپوستینگ مورد استفاده که در مقیاس آزمایشگاهی انجام گرفت می‌تواند همراه با روش‌های فیزیکی و شیمیایی دیگر، غلظت آلاینده‌های هیدروکربنی را به سطح مجاز آن‌ها برساند و از آسیب‌ها و خطرات سلامتی و زیست محیطی آن بکاهد.

مراجع

۱. حاتمیان، ا.س.، «زیست سالم‌سازی خاک‌های آلوده به هیدروکربن‌ها و آروماتیک‌های چند حلقه‌ای»، پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس، (۱۳۷۹).

۲. محوری، م.، «بررسی روش‌های تصفیه‌ی هیدروکربن‌های آروماتیک BTEX در فاضلاب صنایع نفت»، سمینار کارشناسی ارشد، بخش مهندسی عمران- محیط زیست، دانشگاه خواجه نصرالدین طوسی، (۱۳۸٤).

3. Pedro, J. et al, "Bioremediation and Natural Attenuation", John Wiley & Sons Inc, (2006).

4. F, Milton. Et al., "Bioremediation of Aquatic and Terrestrial Ecosystems", Science Publishers Inc, (2005).

5. Boopathy, R., "Factors Limiting Bioremediation Technologies", Bioresource Technology, 74, pp. 63-67, (2000).

6. Vidali, M., "Bioremediation- An overview", Pure Appl. Chem, 73, pp. 1163–1172, (2001).

7. Singh, Ajay. et al, "Advances in Applied Bioremediation", Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, (2009).
8. Sarkar, D., M. Ferguson., R. Datta and S. Birnbaum, "Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation", Environmental Pollution, 136, pp. 187-195, (2005).
9. Namkoong, Wan., Eui-Young Hwang, Joon-Seok Park., Jung-Young Choi., "Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting", Environmental Pollution, 119, pp. 23–31, (2002).
10. European Committee for Standardization, prEN 14039, "Characterization of Waste - Determination of Hydrocarbon Content in the Range of C10 to C40 by Gas Chromatography", Brussels, (2004).
11. Joo, Hung-Soo., Shoda, Makoto ,Phae, Chae-Gun., "Degradation of diesel oil in soil using a food waste composting process", Biodegradation, 18, pp. 597–605, (2007).
12. Nocentini, M., Pinelli, D., Fava, F., "Bioremediation of a soil contaminated by hydrocarbon mixtures: the residual concentration problem", Chemosphere, 41, pp. 1115–1123, (2000).
13. Molina-Barahona, L., R. Rodr´ıguez-Vázquez, M., Hernández-Velasco, C. Vega-Jarqu´ın, O., Zapata-Pérez, A., Mendoza-Cantú., A. Albores, "Diesel removal from contaminated soils by biostimulation and supplementation with crop residues", Applied Soil Ecology, 27, pp. 165–175, (2004).
14. Zhou, E. ,R. Crawford, "Effect of oxygen, nitrogen, and temperature on gasoline biodegradation in soil", Biodegradation, 6, pp. 127-140, (1995).
15. Jobson, A., Mclauglin, M., Cook, F. D., Westlake, D.W.S., "Effects of amendments on the microbial utilization of oil applied to soil", Appl Microbiol, 27(1), pp. 166–171, (1974).
16. Ayotamuno, M.J., R.B. Kogbara, S.O.T. Ogaji, S.D. Probert, "Bioremediation of a crude-oil polluted agricultural-soil at Port Harcourt, Nigeria", Applied Energy, 83, pp. 1249–1257, (2006).
17. Odokuma, LO. and Dickson, AA., "Bioremediation of a crude-oil polluted tropical rain-forest soil", Global J Environ Sci, 2(1), pp. 29–40, (2003).
18. Ting, Y. P., Hu, H. L. and Tan, H.M., "Bioremediation of petroleum hydrocarbons in soil microcosms", Resource and Environmental Biotechnology, 2, pp. 197-218, (1999).
19. Adesodun, J.K. and Mbagwu, J.S.C., "Biodegradation of waste-lubricating petroleum oil in a tropical alfisol as mediated by animal droppings", Bioresource Technology, 99, pp. 5659–5665, (2008).
20. Sabat'e, J., Vinas, M. and Solanas, A.M., "Laboratory-scale bioremediation experiments on hydrocarbon-contaminated soils", *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54, pp. 19 – 25,

(2004).

21. Lin, T-C., Po-Tsen, P. and Sheng-Shung, C., "Ex situ bioremediation of oil-contaminated soil", *Journal of Hazardous Materials*, 176, pp. 27–34, (2010).

22. Sang-Hwan, L. and Bang-Il Oh, J-G K., "Effect of various amendments on heavy mineral oil bioremediation and soil microbial activity", Bioresource Technology, 99, pp. 2578–2587, (2008).